

Ophthalmologische Klinik und Poliklinik der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. med. Friedrich Rintelen

Zum Problem der Nichtgerinnung von Blutungen in die Augenvorderkammer

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Jakob Oeri
von Basel und Zürich

1951

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. F. Rintelen
Tag der Promotion: 2. März 1951



Separatabdruck der Acta Ophthalmologica
Vol. 30. Fasc. 2.

ZUM PROBLEM DER NICHTGERINNUNG VON BLUTUNGEN IN DIE AUGENVORDERKAMMER

Von *Johann Jakob Oeri.*

Für die Ophthalmologen ist es eine altbekannte Tatsache, dass in die Augenvorderkammer ergossenes Blut in der Regel nicht gerinnt. Es scheint dabei keine Rolle zu spielen, ob diese Haemorrhagie in Folge einer Operation, einer gewöhnlichen Verletzung oder einer Entzündung entstanden ist. Gelegentlich gerinnen allerdings solche Blutungen doch. Es ist nicht bekannt, welche Umstände diese Sonderfälle bewirken; am häufigsten scheint Gerinnung bei besonders massiver Blutung einzutreten.

Die Frage, weshalb in der Regel ein Hyphaema nicht gerinnt, sondern bis zu seiner völligen Resorption flüssig bleibt, ist schon häufig Gegenstand von Vermutungen gewesen; hingegen sind hierüber unseres Wissens noch keine systematischen Untersuchungen gemacht worden. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit diesem Problem. Sie umfasst einerseits eine Kritik der Vermutungen, die schon geäußert worden sind und anderseits eine Reihe praktischer Versuche.

Theoretisch sind sehr verschiedene Ursachen denkbar, die eine Blutgerinnung in der Augenvorderkammer verhindern können. Sie gliedern sich in der Hauptsache in 3 Gruppen:

1. Wandbeschaffenheit der Kammer.
2. Gerinnungshemmende Substanzen im Kammerwasser.
3. Blutverdünnung durch das Kammerwasser.

Bisher wurden unseres Wissens nur die ersten beiden Gruppen zur Erklärung der Nichtgerinnung herangezogen.

1. Wandbeschaffenheit der Kammer.

Die Beschaffenheit der Wandung der Vorderkammer wurde ursprünglich am häufigsten als Ursache der Nichtgerinnung angesehen. Diese Auffassung wurde beispielsweise in den »Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft 1937« von *Watzka* geäußert (vgl. *Holmgren*¹⁾). Es wurde gesagt, dass die Vorderkammer, ähnlich den Gelenken und den serösen Höhlen, vollständig von Endothel ausgekleidet sei und dass in solchen Räumen Gerinnung nie eintrete.

Diese Auffassung ist aus zwei Gründen abzulehnen. Erstens ist die Vorderkammer im Bereiche der Iris nicht lückenlos von Endothel ausgekleidet; dadurch unterscheidet sie sich von serösen Höhlen und von Gelenkspalten. Zweitens besteht heute kein Zweifel mehr darüber, dass Blut, das sich in seröse Höhlen oder in Gelenke ergießt, gerinnt. Dies haben schon Untersuchungen von *Henschen* und Mitarbeitern 1917²⁾ und *Halse* 1949³⁾ gezeigt. Diese Autoren fanden wenig Minuten nach entstandener Blutung z. B. in ein Gelenk eine normale Gerinnung. Erst das später aus den Gelenken punktierte Blut war flüssig. Es enthielt aber kein Fibrinogen mehr, war also durch Defibrinierung und Fibrinolyse wieder flüssig geworden. Wie *Zehnder* 1947⁴⁾ gezeigt hat, gerinnt Blut sogar in doppelt ligierten Gefäßabschnitten. Wenn der Vorgang in der Augenvorderkammer der gleiche wäre, dann wäre das erste Stadium, in welchem Gerinnung bestehen würde, wohl kaum der Beobachtung entgangen. Immerhin wäre es sehr wünschenswert, wenn Hyphaemata in systematischen Untersuchungen noch auf ihren Gehalt an Fibrinogen geprüft würden.

2. Gerinnungshemmende Substanzen im Kammerwasser.

An Substanzen, welche die Entstehung der Gerinnung verhindern, kommen beim Menschen als körpereigene Substanzen namentlich Heparin und Serumantithrombin in Frage. Heparin greift in der Hauptsache in die zweite Gerinnungsphase ein, indem es dem Thrombin entgegenwirkt; es ist also ein Antithrombin.

Die Vermutung, dass Heparin im Kammerwasser die Gerinnung verhindern könnte, wurde z. B. 1937 von *Holmgren*¹⁾ und 1943 von *Hagedoorn*⁵⁾ geäußert. In der Umgebung der Vorderkammer kommen genügend Mastzellen vor, die eine Sekretion von Heparin in das Kammerwasser erklären lassen. Nach *Holmgren*¹⁾ soll das Kammerwasser sogar eine Metachromasie bei Färbung mit Toluidinblau aufweisen, die auf einen Heparingehalt hindeute. Systematische Untersuchungen wurden hingegen mit Kammerwasser nicht angestellt. Sie sind wesentlicher Gegenstand dieser Arbeit und weiter unten ausführlich beschrieben.

3. Blutverdünnung durch das Kammerwasser.

Denkbar wäre endlich, dass bei Mischung von Blut mit Kammerwasser die Gerinnungselemente in dem Gemisch so stark verdünnt werden, dass deshalb die Gerinnung ausbleibt. Wie die unten beschriebenen Versuche zeigen, ist dies aber keineswegs der Fall; auch dann nicht, wenn eine allfällige Ausschwemmung der Gerinnungselemente aus der Kammer durch die Erneuerung des Kammerwassers mit in Betracht gezogen wird.

Versuche mit Kammerwasser.

Die hier dargestellten Versuche sollten zeigen, ob die Mischung von Blut mit Kammerwasser die Blutgerinnung verhindert oder erschwert; im besonderen, ob das Kammerwasser eine gerinnungshemmende Substanz enthält.

Die Versuche sind ausnahmslos nicht mit menschlichem, sondern mit tierischem Kammerwasser durchgeführt worden. Wo nicht anders vermerkt, handelt es sich um frisches Kammerwasser von Ochsen. Es ist aber nicht ganz ausgeschlossen, dass sich dieses Kammerwasser vom menschlichen gerinnungsphysiologisch unterscheidet. Die gewonnenen Ergebnisse sind daher nicht ohne weiteres für das menschliche Auge massgebend.

1. Recalcifizierungen.

In Vorversuchen hatte es sich gezeigt, dass Kammerwasser, wenn es in genügenden Mengen zugesetzt wird, Citratblut und Citratplasma zu recalcifizieren vermag. Es lassen sich daher Vergleiche ziehen zwischen Kammerwasser und einer andern recalcifizierenden Flüssigkeit, die zeigen, ob Kammerwasser einen spezifischen Einfluss auf den Ablauf der Gerinnung hat. Als Vergleichsflüssigkeit wurde isotonische Kochsalzlösung verwendet mit einem Zusatz der gleichen Menge Calcium, wie sie im Kammerwasser enthalten ist (nach *Duke-Elder*⁶) 0,0062 g/100 ccm). Diese Lösung wird im Folgenden immer als »Vergleichslösung« bezeichnet.

Ein Unterschied ist in zwei Beziehungen denkbar. Einerseits können die Recalcifizierungszeiten variieren und anderseits auch die Grenzwerte der noch gerinnenden Verdünnungen verschieden sein.

A. Grenzwerte der Verdünnungen, die noch Gerinnung erkennen lassen.

Es wurden Verdünnungsreihen hergestellt, wobei Citratblut oder Citratplasma von Ochsen mit Kammerwasser oder Vergleichslösung verdünnt wurde. Die Verdünnungsreihe wurde im Verhältnis 1: 10, 1: 20, 1: 40 etc. bis 1: 20480 angelegt, im ganzen 12 verschiedene Verdünnungen. Nach einigen Stunden Aufbewahrung bei Zimmertemperatur wurde abgelesen, bis zu welcher Verdünnung Gerinnung eingetreten war. Es zeigten sich folgende Resultate:

Verdünnung Citratblut/Vergleichslösung	Gerinnung bis 1: 320
Verdünnung Citratplasma/Vergleichslösung	Gerinnung bis 1: 320
Verdünnung Citratblut/Kammerwasser	Gerinnung bis 1: 10240
Verdünnung Citratplasma/Kammerwasser	Gerinnung bis 1: 10240

Beurteilung: Die Versuche zeigen einen sehr auffälligen Unterschied zwischen Verdünnungen mit Kammerwasser gegenüber solchen mit Vergleichslösung. Von einem gerinnungs-

hemmenden Einfluss des Kammerwassers kann nicht die Rede sein. Im Gegenteil scheinen sich Eiweisstoffe des Kammerwassers an der Gerinnung zu beteiligen. Nur so lässt sich erklären, weshalb bei Recalcifizierung mit Kammerwasser Gerinnung noch bei viel stärkerer Verdünnung eintritt, als bei Recalcifizierung mit der Vergleichslösung. (Kammerwasser enthält nach *Duke-Elder*⁶⁾ 0,0123 g Globuline pro 100 ccm.)

Die Versuche zeigen gleichzeitig, dass nicht die Verdünnung irgend eines Gerinnungselementes (Calcium, Prothrombin, Thrombokinase, Fibrinogen) das Nichtgerinnen von Kammerblutungen bedingen kann. Schon Blutverdünnungen von 1:1280 lassen von bloßem Auge den Blutgehalt kaum mehr erkennen. Die klinisch sinnfälligen und bedeutsamen Blutverdünnungen dürften etwa bei 1:50 bis 1:1000 liegen.

B. *Recalcifizierungszeiten.*

Es wurden wieder die gleichen Verdünnungsreihen hergestellt, wie oben zur Grenzwertbestimmung, d. h. Plasmaverdünnungen von 1:20, 1:40, 1:80 etc. bis 1:10240 (10 Verdünnungen). Die Bestimmung der Recalcifizierungszeit bei verdünntem Citratplasma ist bedeutend schwieriger als bei unverdünntem. Einerseits tritt die Gerinnung nicht so schlagartig ein und anderseits werden bei häufiger Kontrolle mit der Oese die hohen Verdünnungen sehr leicht defibriniert, ohne dass die Bildung von Fibrin überhaupt erkannt wird. Es muss daher danach getrachtet werden, mit möglichst wenig Kontrollen auszukommen. Das hat zur Folge, dass die Resultate mit zunehmender Verdünnung immer ungenauer werden. Die Bestimmungen wurden bei einer Zimmertemperatur von 28—29,5° gemacht.

Tabelle Nr. 1 zeigt die Durchschnitte der gefundenen Werte von drei Versuchen mit Kammerwasser und zwei Versuchen mit Vergleichslösung. Wenn von der Verdünnung 1:20 abgesehen wird, ist ein linearer Anstieg der Recalcifizierungszeiten mit zunehmender Plasmaverdünnung augenfällig. (Bei 1:20 sind die Zeiten länger als bei 1:40. Bei den Gerinnungszeiten weiter unten findet sich ein ähnlicher Unterschied. Vielleicht

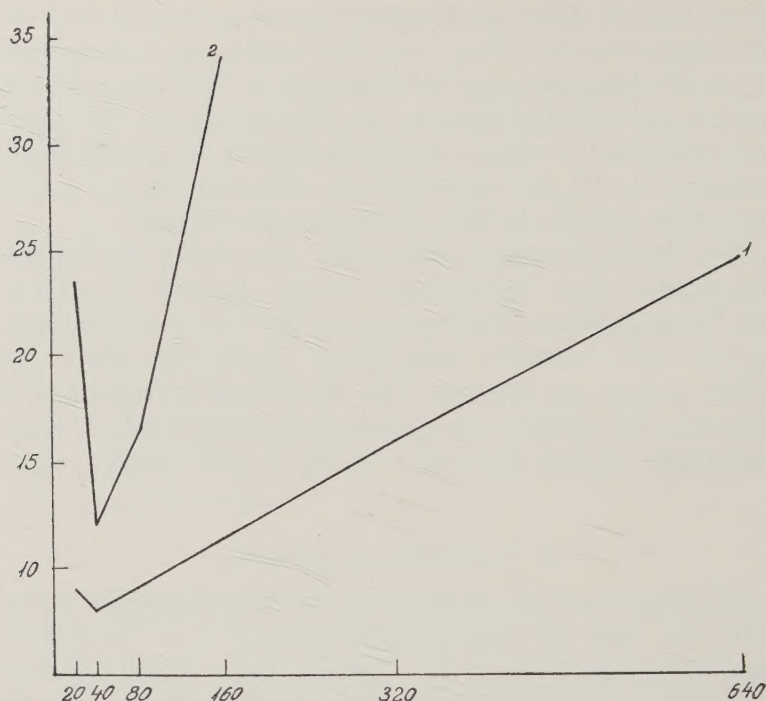


Tabelle Nr. 4.

Recalcifizierungszeiten von verdünntem Plasma.

Ordinaten = Recalcifizierungszeiten in Minuten.

Abscissen = Plasmaverdünnungen 1:20, 1:40 etc.

Kurve 1 = Plasma mit Kammerwasser verdünnt.

Kurve 2 = Plasma mit Vergleichslösung verdünnt.

handelt es sich bei der Verdünnung 1:20 um einen relativen Mangel an Ca-Jonen.)

Bei den Verdünnungen mit Vergleichslösung sind die Bestimmungen nur bis 1:160 gelungen, während bei Verdünnung mit Kammerwasser die Zeiten z. T. bis 1:5120 gefunden wurden.

Beurteilung: Der Unterschied zwischen Plasmaverdünnung mit Kammerwasser und solcher mit Vergleichslösung ist ebenso evident wie bei der Grenzwertbestimmung. Wieder ist kein hemmender Einfluss des Kammerwassers auf die Gerin-

nung festzustellen. Im Gegenteil entsteht rascher Gerinnung, wenn mit Kammerwasser recalcifiziert wird, als wenn Vergleichslösung verwendet wird.

2. Gerinnungszeiten.

Mit der Bestimmung der Gerinnungszeiten von Blutverdünnungen wurden zwei Zwecke verfolgt. Einerseits sollten die Resultate der Recalcifizierungen mit anderer Versuchsanordnung überprüft werden. Andererseits sollte aber auch festgestellt werden, in welchen Zeiten überhaupt erwartet werden kann, dass eine Kammerblutung gerinnt, nachdem das Blut durch Kammerwasser verdünnt worden ist.

Die Versuche wurden im Wasserbad von 37° durchgeführt. Als Material konnte aus technischen Gründen nicht Ochsenblut verwendet werden. Es ist daher durch Venenpunktion das Blut immer desselben Menschen gewonnen worden, dessen Gerinnungszeit bei Routinebestimmung nach Fonio und Bürker normal bis leicht verlängert war. Die angegebenen Gerinnungszeiten sind von Beginn der Punktion an gerechnet. Das Blut wurde wieder mit Ochsenkammerwasser einerseits und Vergleichslösung wie bei der Recalcifizierung andererseits verdünnt, (d. h. physiologische Kochsalzlösung mit Zusatz von CaCl_2 bis zum Gehalt von 0,0062 g Calcium pro 100 ccm). Die Verdünnungsreihen enthielten wieder die Verdünnungen 1:20, 1:40, 1:80 etc. Die Schwierigkeiten bei den hohen Verdünnungen sind die gleichen wie bei der Bestimmung der Recalcifizierungszeit; d. h. die gefundenen Zeitwerte werden mit zunehmender Verdünnung ungenauer. In Tabelle Nr. 2 sind die Durchschnitte der gefundenen Gerinnungszeiten von zwei Versuchen mit Vergleichslösung und drei Versuchen mit Kammerwasser dargestellt.

Beurteilung: Die Gerinnungszeiten zeigen absolute Parallelität mit den Recalcifizierungszeiten, also einen linearen Anstieg der Zeiten mit zunehmender Verdünnung. Dass die Gerinnungszeiten durchwegs etwas länger sind, verwundert nicht, da bei der Gerinnungszeit noch jene Zeit hinzukommt,

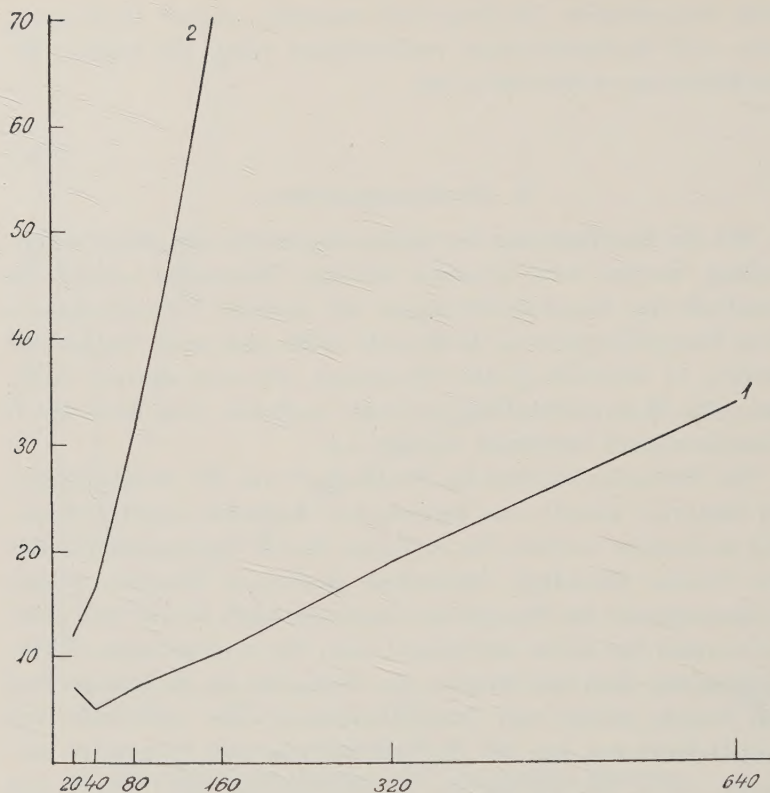


Tabelle Nr. 2.

Gerinnungszeiten von verdünntem Blut.

Ordinaten = Gerinnungszeiten in Minuten.

Abscissen = Blutverdünnungen 1:20, 1:40 etc.

Kurve 1 = Blut mit Kammerwasser verdünnt.

Kurve 2 = Blut mit Vergleichslösung verdünnt.

die die Thrombokinase braucht, um aktiv zu werden. Wieder ist kein gerinnungshemmender Einfluss des Kammerwassers festzustellen. Im Gegenteil gerinnen Blutverdünnungen mit Kammerwasser leichter, als solche mit Vergleichslösung.

Die Resultate zeigen auch, in welcher Zeit ungefähr die Gerinnung einer Kammerblutung erwartet werden kann. Wie diese Zeiten bewertet werden sollen, ist weiter unten anlässlich der Kammerwasser-Erneuerung besprochen.

3. Antithrombinzeiten.

Die oben dargestellten Versuche machen einen bedeutungsvollen Gehalt des Kammerwassers an Heparin schon sehr unwahrscheinlich. Sie schliessen aber das Vorkommen von Heparin nicht aus. Aus diesem Grunde wurden die Antithrombinzeiten nach *Quick*⁷⁾ bei Gemischen von Plasma mit Kammerwasser einerseits und Plasma mit verschiedenen Vergleichslösungen anderseits gemessen. Die Antithrombinzeitbestimmung stellt nur hemmende Einflüsse auf die zweite Gerinnungsphase fest, die dem bereits fertigen Thrombin entgegenwirken. Darin ist sie spezifisch für die Antithrombine.

In grossen Zügen war im vorliegenden Falle die Versuchsanordnung die Folgende: Kammerwasser wurde mit Citratplasma gemischt. Von diesem Gemisch wurden 0,2 ccm in einem Reagenzröhrchen in ein Wasserbad von genau 37° gebracht. Sodann wurden 0,1 ccm einer Lösung von reinem Thrombin zugesetzt und unter ständiger Kontrolle mit einer Oese der Zeitpunkt beginnender Gerinnung vom Moment des Thrombinzusatzes an genau gemessen. Dies wurde in gleicher Weise mit verschiedenen Thrombinlösungen (1: 5'000, 1: 10'000 etc.) durchgeführt. Mit zunehmender Thrombinverdünnung steigen die Zeiten und ein allfälliger Einfluss von Heparin, das dem Thrombin entgegenwirkt, wird deutlicher. Das Plasma dient also einzig als Spender des Fibrinogens, während das Kammerwasser allfällige Antithrombine liefert. Um Vergleiche ziehen zu können, wurde der Versuch auch mit verschiedenen Vergleichsgemischen angestellt, die teils sicher, teils wahrscheinlich kein Heparin enthielten. So wurde an Stelle von frischem Kammerwasser auch solches verwendet, das gekocht und während ca. eines Monats im Eisschrank aufbewahrt worden war (im Folgenden als »altes Kammerwasser« bezeichnet). Oder das Kammerwasser wurde durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Zudem wurden alle diese Gemische teils unverändert, teils nach Zusatz von Protaminsulfat verwendet. Protaminsulfat verbindet sich mit Heparin zu unlöslichen Salzen, welche keine verzögernde Wirkung auf die Blutgerinnung haben. Da dieses Protaminsulfat im Ueberschuss zugefügt wurde, ist die Anwesenheit aktiven Heparins

in diesen Gemischen ausgeschlossen; gleichzeitig wurden aber auch die Spuren von Heparin, die das Plasma enthält, eliminiert. So wurde der Versuch mit den sechs folgenden Plasماغemischen angestellt.

1. Frisches Kammerwasser + Plasma
2. Frisches Kammerwasser + Plasma + Protaminsulfat
3. Altes Kammerwasser + Plasma
4. Altes Kammerwasser + Plasma + Protaminsulfat
5. Physiol. Kochsalzlösung + Plasma
6. Physiol. Kochsalzlösung + Plasma + Protaminsulfat

Die Numerierung dieser Gemische entspricht jener in
Tabelle Nr. 3.

Der ganze Versuch wurde mehrmals durchgeführt. Es haben sich dabei einige Differenzen in den absoluten Zeiten ergeben, die vermutlich auf individuellen Unterschieden des verwendeten Plasmas beruhten. Graphisch dargestellt haben sich aber Bilder ergeben, die einander sehr gut entsprechen. Eine dieser Darstellungen ist in Tabelle Nr. 3 wiedergegeben.

Beurteilung: Die Kurven zeigen zwar eine deutlich höhere Antithrombinzeit bei Mischung von Plasma mit Kammerwasser (1) gegenüber der Mischung von Plasma mit physiologischer Kochsalzlösung (5). Dass dieser Unterschied aber nicht auf der Anwesenheit von Heparin im Kammerwasser zu beruhen braucht, zeigt die Mischung von Plasma mit altem Kammerwasser (3), die noch längere Zeiten aufweist, trotzdem dieses alte und gekochte Kammerwasser sicher nicht mehr Heparin enthält als frisches. Die Unterschiede können sehr wohl durch verschiedene p_H -Werte oder durch den unterschiedlichen Ionengehalt bedingt sein. Bei Zusatz von Protaminsulfat zu diesen drei Gemischen verkürzen sich die Zeiten alle beträchtlich. Das Verhältnis unter den drei Gemischen bleibt aber das gleiche, wie ohne Protaminsulfat, d. h. das Gemisch Plasma — Kochsalzlösung — Protaminsulfat (6) zeigt die kürzesten Zeiten, das Gemisch Plasma — altes Kammerwasser — Protaminsulfat (4) die längsten und jenes von Plasma

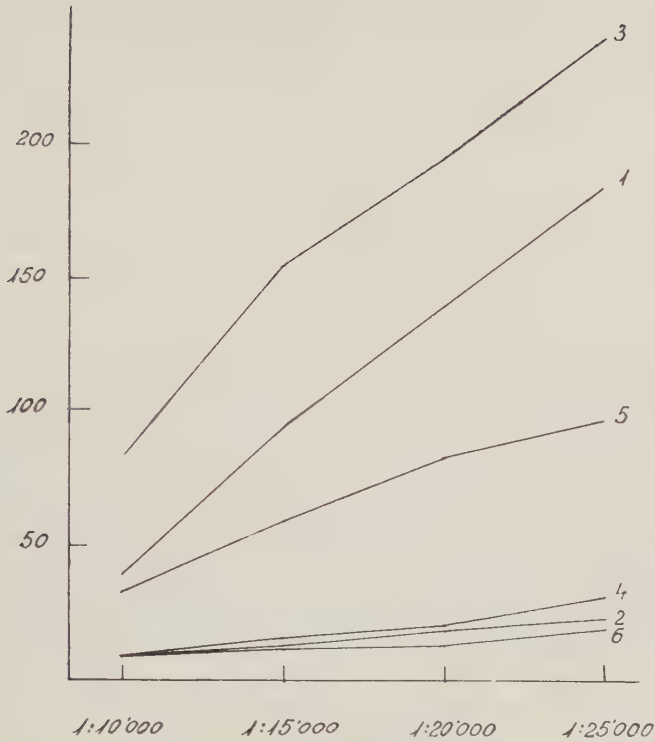


Tabelle Nr. 3.

Antithrombinzeiten von verdünntem Plasma.

Ordinaten = Antithrombinzeiten in Sekunden.

Abscissen = Thrombinverdünnungen.

Kurve 1 = Plasma + frisches Kammerwasser.

Kurve 2 = Plasma + frisches Kammerwasser + Protaminsulfat.

Kurve 3 = Plasma + altes Kammerwasser.

Kurve 4 = Plasma + altes Kammerwasser + Protaminsulfat.

Kurve 5 = Plasma + physiol. Kochsalzlg.

Kurve 6 = Plasma + physiol. Kochsalzlg. + Protaminsulfat.

(Die genaue Zusammensetzung der sechs Gemische ist auf Seite 18 beschrieben).

— frisches Kammerwasser — Protaminsulfat (2) liegt in der Mitte. Es ist daher anzunehmen, dass die Unterschiede zwischen Gemischen ohne Protaminsulfat gegenüber jenen mit Protaminsulfat lediglich auf der Eliminierung des Heparins

im Plasma beruhen. Ein minimaler Gehalt des Kammerwassers an Heparin ist allerdings damit nicht absolut ausgeschlossen; hingegen ist Heparin sicher nicht in Mengen vorhanden, welche die Gerinnung einer Kammerblutung verhindern könnten.

4. *Verschiedene Versuche und Beobachtungen.*

A. *Chemischer Heparinnachweis.*

Die chemische Fabrik F. Hoffmann-La Roche & Co. A. G. hatte die Freundlichkeit, für uns eine chemische Untersuchung von Ochsenkammerwasser auf einen allfälligen Gehalt an Heparin zu machen. Es ist ihr dabei auch im Anreicherungsverfahren nicht gelungen, Heparin nachzuweisen. Die angewandte Methode erlaubt, einen Heparinegehalt von mindestens 0,1 IE pro 1 ccm zu bestimmen. Blut enthält nach verschiedenen Angaben 0,0117—0,03 IE pro 1 ccm. Wenn also Ochsenkammerwasser überhaupt Heparin enthält, dann sicher nicht mehr als den drei- bis zehnfachen Gehalt des normalen Blutes.

B. *Kammerblutungen im Ochsenauge.*

Unter den vielen Ochsenaugen, die zur Gewinnung von Kammerwasser vom Schlachthof bezogen wurden, haben sich zwei befunden, die eine Kammerblutung aufwiesen. Leider konnte nicht festgestellt werden, in welchem Zeitpunkt diese Blutungen entstanden waren. Die Augen waren äusserlich unverletzt. Aus den Augen konnte ein flüssiges Gemisch von Blut und Kammerwasser punktiert werden, das einer Blutverdünnung von schätzungsweise 1:20 resp. 1:60 entsprach. Im Reagenzglas ist dieses Punktat ohne weiteres geronnen. In der Folge ist aber auch bei jenem Gemisch, das im Auge belassen wurde, Gerinnung eingetreten, wenn auch weniger rasch.

Obschon aus diesen Beobachtungen an toten Augen keine sicheren Schlüsse für das lebende Tier gezogen werden können, ist doch anzunehmen, dass wie beim Menschen auch beim Ochsen Kammerblutungen gewöhnlich nicht gerinnen. Zudem ist sichergestellt, dass das Gemisch im Zeitpunkt der Punktion

nicht wegen der Anwesenheit von Heparin flüssig war, weil es sonst auch in vitro hätte flüssig bleiben müssen.

C. Verletzungen und Blutungen im Kaninchenauge.

Bekanntlich neigt das Auge des Kaninchens weit mehr zur Bildung von Fibrin in der Vorderkammer als jenes des Menschen. So entsteht schon bei blosser Punktion der Kammer beim Kaninchenauge Fibrin in kurzer Zeit. Kammerwasser, das wir aus normalen Kaninchenaugen punktiert hatten, ist zwar nicht spontan, wohl aber nach Zusatz von Thrombin geronnen. Kammerwasser, das etwa vier Minuten nach einer ersten Punktion entnommen wurde — also sekundäres Kammerwasser — ist in kürzester Zeit spontan geronnen. Eigenblutinjektionen in die Vorderkammer des Kaninchens (vgl. *Riehm*⁸)) gerinnen ebenfalls in kurzer Zeit. Der Versuch, bei Kaninchen eine künstliche Kammerblutung durch Verletzung der Iris zu bewirken, ist uns leider misslungen. Immerhin ist es sehr wahrscheinlich, dass die Verhältnisse beim Kaninchen auch bei einer Kammerblutung wesentlich anders sind als beim Menschen und dass sie wahrscheinlich gerinnen. Dies lässt aber auch berechtigten Zweifel darüber aufkommen, ob beim Ochsen die gleichen Verhältnisse vorliegen wie beim Menschen und ob unsere Versuche mit Ochsenkammerwasser überhaupt auch nur prinzipielle Gültigkeit für die Humanphysiologie und -pathologie haben. Da uns aber menschliches Kammerwasser nicht in genügender Menge zur Verfügung stand, blieb uns keine andere Wahl.

D. Der Einfluss der Kammerwasser-Erneuerung.

*Goldmann*⁹) berechnet die normale Kammerwasser-Erneuerung auf ein prozentuales Minutenvolumen von $1,1 \% \pm 0,22 \%$. Wenn man den Einfluss, den die Kammerwasser-Erneuerung auf die Kammerblutung haben könnte, in Betracht ziehen will, dann sollte man aber noch zwei Dinge wissen: erstens ob alle gelösten Bestandteile des Blut-Kammerwasser-

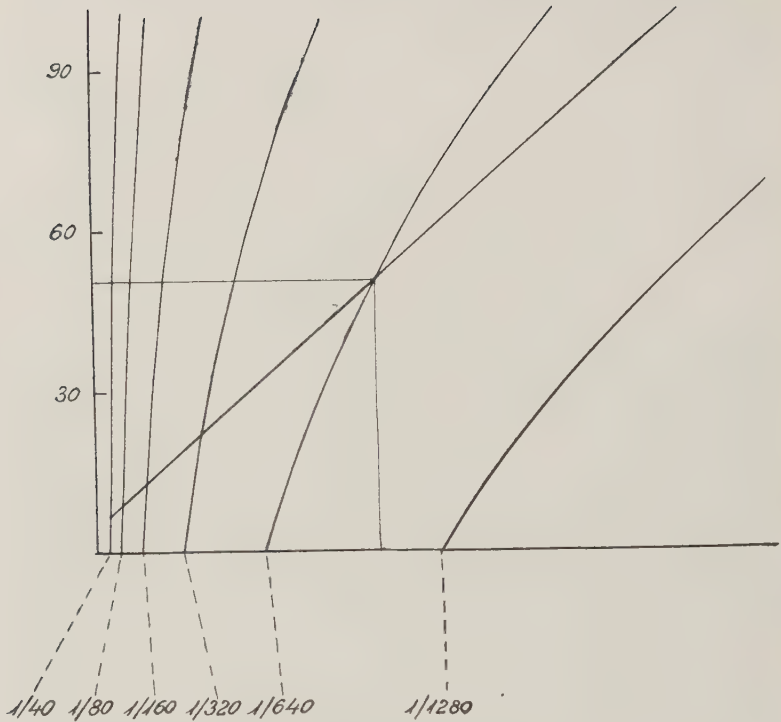


Tabelle Nr. 4.

Theoretischer Einfluss der *Kammerwasser-Erneuerung* auf die Blutverdünnung bei Kammerblutungen.

Ordinaten = Zeiten in Minuten, während welcher die Kammerwasser-Erneuerung wirksam ist.

Abscissen = Blutverdünnungen.

Die Kurven zeigen, wie die anfänglichen Blutverdünnungen mit der Zeit zunehmen. Die Gerade zeigt die mittlere Gerinnungszeit bei 37° der entsprechenden Blutverdünnungen.

Gemisches die Kammer im gleichen Verhältnis verlassen, wie sie im Gemisch vorhanden sind, und zweitens, ob die Erneuerung nach erfolgter Blutung gleich intensiv bleibt. Beides ist nicht wahrscheinlich. Die grossmolekularen Bestandteile werden die Kammer vermutlich weniger rasch verlassen als die kleinmolekularen. Und die Tatsache, dass bei Kammerblutungen häufig ein Sekundärglaucom droht, lässt vermuten, dass der Abfluss gehemmt und damit die Erneuerung weniger in-

tensiv ist. Wir haben, ohne diese Vermutungen zu berücksichtigen, berechnet, wie stark die Verdünnung des Plasma mit der Zeit zunehmen sollte bei einem prozentualen Minuten-volumen des Kammerwasser-Durchflusses von 1,0 %. Es wird also vorerst angenommen, dass die Plasmabestandteile die Kammer gleich leicht verlassen, wie das Kammerwasser, und dass die Erneuerung ungefähr gleich intensiv bleibt. Die errechneten Werte sind in Tabelle Nr. 4 kurvenmässig dargestellt. Die Tabelle zeigt z. B., dass eine anfängliche Blutverdünnung von 1:640 innerhalb 50 Minuten auf die Verdünnung 1:1060 ansteigen sollte. Gleichzeitig sind in der Tabelle durch eine Gerade die mittleren Gerinnungszeiten *in vitro* eingezeichnet, wie sie für die verschiedenen Blutverdünnungen mit Kammerwasser in unseren Versuchen bei 37° gefunden wurden. Alle anfänglichen Mischverhältnisse, welche die Gerade der Gerinnungszeiten im Laufe ihrer Verdünnungszunahme noch schneiden, haben danach noch die Möglichkeit, zu gerinnen, bevor sie so stark verdünnt sind, dass eine Gerinnung unmöglich wird. Dies ist nach der Tabelle der Fall bei allen Verdünnungen zwischen 1:0 und ungefähr 1:800. Mit Sicherheit sind aber die Verhältnisse in Wirklichkeit nicht so einfach, wie in der Tabelle dargestellt. Einerseits wird die Gerinnung im Auge schon dadurch langsamer ablaufen als *in vitro*, dass das Blut in Ruhe gelassen wird. Und anderseits ist, wie gesagt, nicht anzunehmen, dass die Verdünnung so schnell zunimmt, wie in der Tabelle angegeben. Die Tabelle zeigt lediglich, dass für die Mischverhältnisse stärkerer und mittlerer Kammerblutungen der Einfluss der Kammerwasser-Erneuerung nicht so gross ist, dass er die Nichtgerinnung des Blutes bedingen könnte.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse:

Recalcifizierungsversuche, Gerinnungszeit-Bestimmungen und Antithrombinzeit-Bestimmungen mit Blut oder Plasma, das mit Ochsenkammerwasser gemischt wurde, haben keinen hemmenden Einfluss dieses Kammerwassers auf die Gerinnung feststellen lassen. Im Gegenteil beteiligen sich in diesen

Gemischen offenbar auch Eiweisstoffe, die dem Kammerwasser entstammen, an der Gerinnung und erleichtern diese sogar. Insbesondere konnte Heparin im Ochsenkammerwasser weder durch die Antithrombinzeit-Bestimmung noch chemisch nachgewiesen werden. Die Erneuerung des Kammerwassers ist nicht intensiv genug, um die Gerinnung von Kammerblutungen durch eine Ausspülung der Gerinnungselemente zu verhindern.

Besondere Angaben über die Versuchsanordnungen.

1. Gewinnung von Ochsenkammerwasser.

Zur Gewinnung von Kammerwasser wurden vom Schlachthof Ochsen-Augen bezogen. Aus einem Auge konnten durchschnittlich etwas weniger als 2 ccm Kammerwasser mit einer gewöhnlichen Spritze punktiert werden. Zwischen Schlachtung der Tiere und Punktion der Augen sind je nach den Umständen eine halbe bis drei Stunden verflossen. Nach der Punktion wurde das Kammerwasser immer noch am selben Tage für die Versuche verwendet. Eine Ausnahme hievon wurde nur mit dem »alten Kammerwasser« bei der Bestimmung der Antithrombinzeiten gemacht.

2. Recalcifizierungen.

Für die Recalcifizierungszeit ist es nicht gleichgültig, wieviel Calcium zu diesem Zweck zum Citratblut zugefügt wird. Aus diesem Grunde wurde zum Vergleich des Kammerwassers eine Mischung von isotonischer Kochsalzlösung und isotonischer Lösung von CaCl_2 verwendet, die wie das Kammerwasser 0,0062 g Calcium pro 100 ccm enthält.

Die Gewinnung des Citratblutes von Ochsen wurde durch das Personal des Schlachthofes durchgeführt, dem zu diesem Zweck Gefässe zur Verfügung gestellt wurden, die zu 1/10 mit 10 %iger Lösung von Natriumcitrat gefüllt waren. Da die Gefässe nicht gleichmässig gefüllt wurden, sind geringe Schwankungen im Citratgehalt des Blutes entstanden. Aus solchem Blut wurde auch das Citratplasma mit der Zentrifuge hergestellt.

A. Grenzwerte der Verdünnungen, die noch Gerinnung erkennen lassen.

In einem ersten Röhrchen wurden Citratblut oder Citratplasma mit Kammerwasser so verdünnt, dass 2 ccm einer Verdünnung 1 : 10

entstanden. Davon wurde 1 ccm in ein Röhrchen gegeben, welches schon vorher 1 ccm Kammerwasser enthalten hatte. Mit 1 ccm der so erhaltenen Verdünnung 1:20 wurde in gleicher Weise die Verdünnung 1:40 hergestellt usw. So konnten in kürzester Zeit je 1 ccm der Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560, 1:5120, 1:10240 und 1:20480 erhalten werden. Während der Herstellung sämtlicher Verdünnungen ist nie Gerinnung eingetreten. Im Prinzip gleich wurden auch die Verdünnungen von Citratblut oder Citratplasma mit der Vergleichslösung hergestellt.

Die Verdünnungen wurden dann während mindestens sechs Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen und anschliessend das Resultat abgelesen. Das gebildete Fibrin zeigte Mengenunterschiede entsprechend den Verdünnungen. In den höchsten Verdünnungen liess sich die Gerinnung nur an einzelnen Flocken von retrahiertem Fibrin erkennen.

B. Recalcifizierungszeiten.

Die Verdünnungsreihen wurden gleich hergestellt, wie oben bei der Grenzwertbestimmung dargestellt, mit den Unterschieden, dass die Verdünnung 1:10 weggelassen wurde und dass von jeder Verdünnung 2 ccm hergestellt wurden. Bei Zimmertemperatur (28—29,5°) wurde die Zeit vom Beginn des Mischverfahrens an bis zur Bildung des ersten Fibrinfadens gemessen. Zu Beginn wurden nur die schwachen Verdünnungen mit der Platinöse geprüft, um eine Defibrinierung der hohen Verdünnungen zu vermeiden. Die letzten wurden erst dann kontrolliert, wenn der Zeitpunkt ihrer Gerinnung anhand der ersten Resultate einigermaßen vorausgesehen werden konnte. Die Genauigkeit der gefundenen Werte für die Recalcifizierungszeiten entspricht ungefähr jener der Gerinnungszeiten, wie sie unten angegeben ist.

3. Gerinnungszeiten.

Die Verdünnungsreihen des Blutes wurden gleich hergestellt, wie bei den Recalcifizierungszeiten; ebenso war die Vergleichslösung dieselbe. Die Röhrchen befanden sich in einem Wasserbade, das mit Rührwerk und Thermostat genau auf 37° gehalten wurde und wurden daraus nur während der Kontrollen für einige Sekunden entfernt.

Die dargestellten Gerinnungszeiten geben die Zeiten von der Venenpunktion bis zur Bildung des ersten Fibrinfadens an (Tab. Nr. 2). Besonders in den hohen Verdünnungen wird es deutlich, dass nicht alles Fibrinogen auf einmal gerinnt, sondern dass das Fibrin allmählich an Menge zunimmt. Es ist daher sicher, dass die gefundenen Gerinnungszeiten nicht genau mit dem tatsächlichen Beginn der

Fibrinbildung übereinstimmen. In den hohen Verdünnungen geht dies so langsam vor sich, dass durch häufige Kontrollen die sehr kleinen Fibrinmengen durch die Oese aus dem Gemisch entfernt würden; die Gerinnung könnte deshalb bis zur völligen Defibrinierung übersehen werden. Aus diesem Grunde musste die Zeit zwischen zwei Kontrollen mit zunehmender Verdünnung wesentlich ausgedehnt werden. Damit nimmt aber auch die Genauigkeit der Zeitwerte ab. Als Angabe über diese Genauigkeiten sind hier die mittleren Zeitintervalle angegeben, die bei den verschiedenen Verdünnungen verstrichen sind zwischen der letzten erfolglosen Kontrolle und jener Kontrolle, bei welcher die Fibrinbildung erkannt wurde. Sie betragen bei den Versuchen mit Kammerwasser für die Verdünnungen 1:20 bis 1:80 je eine halbe Minute, für 1:160 und 1:320 je eine Minute, für 1:640 drei Minuten, für 1:1280 fünfundzwanzig Minuten etc., bei den Versuchen mit Vergleichslösung für die Verdünnungen 1:20 und 1:40 je eine Minute, für 1:80 zwei Minuten und für 1:160 fünfzehn Minuten. In der Grössenordnung gleich waren die Genauigkeiten auch bei den Recalcifizierungszeiten.

4. Antithrombinzeiten.

Die genaue Zusammensetzung und die Mengenverhältnisse der sechs Vergleichsgemische, die zur Antithrombinzeitbestimmung dienten, sind hier zusammenfassend dargestellt:

10 ccm	1 ccm	1 ccm	4 ccm
1. Frisches KW	Citrat	NaCl	Plasma
2. Frisches KW	Citrat	P. S.	Plasma
3. Altes KW	Citrat	NaCl	Plasma
4. Altes KW	Citrat	P. S.	Plasma
5. NaCl	Citrat	NaCl	Plasma
6. NaCl	Citrat	P. S.	Plasma

In dieser Aufstellung bedeuten:

Frisches KW = Kammerwasser, das am Versuchstage aus den Augen frisch geschlachteter Ochsen gewonnen wurde.

Altes KW = Kammerwasser, das schon etwa einen Monat vor dem Versuche gewonnen worden war, das damals gekocht, von Eiweissniederschlag abfiltriert und anschliessend im Eisschrank aufbewahrt worden war. Es war jeweils trotz der Filtration leicht opal.

NaCl = physiologische Kochsalzlösung.

- Citrat = 10 %-ige Lösung von Natriumcitrat zur Eliminierung des Calciums im Kammerwasser. Ohne dieses Citrat wäre bei der Mischung des Kammerwassers mit dem Plasma Recalcifizierung eingetreten.
- P. S. = die käufliche Lösung von Protaminsulfat-»Roche«, das klinisch zur Therapie von Ueberdosierungen mit Heparin verwendet wird.
- Plasma = Citratplasma, das aus frischem Ochsenblut hergestellt worden war.

Aus der Aufstellung ist ersichtlich, dass sich das Plasma zum Kammerwasser im Verhältnis 1 : 2,5 befunden hat, während die Gesamtverdünnung des Plasma 1 : 3 beträgt. Es wurde darauf geachtet, dass sich die Gemische möglichst weitgehend entsprechen. Aus diesem Grunde wurde auch zu den Gemischen 5 und 6 Citrat zugesetzt, obschon hier kein Calcium zu eliminieren war und in jenen Gemischen, wo kein Protaminsulfat enthalten sein sollte, wurde dieses durch NaCl ersetzt.

Zur Herstellung der Thrombinlösungen hat uns das getrocknete *Topostasine*-»Roche« gedient.

Die Bestimmungen wurden im Wasserbad durchgeführt, das mit Rührwerk und Thermostat auf genau 37° gehalten wurde. In der Regel wurde aus einer Stammlösung von 1 : 1'000 eine Thrombinverdünnung hergestellt, die nacheinander zu den Bestimmungen mit allen sechs Gemischen diente. Anschliessend wurde ein zweites- und drittesmal dasselbe mit jeweils neuer Thrombinverdünnung gemacht. So wurden für jede Versuchsbedingung drei Antithrombinzeiten gefunden, deren Mittel in Tabelle Nr. 3 eingetragen ist. Wie schon oben erwähnt, wurde der ganze Versuch verschiedentlich wiederholt mit vollständig neuem Material.

Erwähnt sei noch, dass gelegentlich auch ein siebentes Gemisch verwendet wurde, das an Stelle von Kammerwasser eine Pufferlösung von Veronalacetat mit $p_H = 7,2$ enthielt. Es wurde ohne Zusatz von Protaminsulfat verwendet. Seine Antithrombinzeiten lagen knapp oberhalb jener des vierten Gemisches.

4. Der Einfluss der Kammerwasser-Erneuerung.

Dass die Berechnung der Zunahme der Blutverdünnung mit der Zeit nach erfolgter Kammerblutung nach den oben gemachten Angaben nicht völlig den Tatsachen entsprechen kann, ist schon gesagt worden. Es sei hier lediglich noch die Formel erwähnt, die uns nach Angaben von Herrn Dr. K.-F. Moppert gedient hat. Sie lautet:

$$x = \frac{x_0}{e^{at}}$$

Dabei bedeuten:

- X = der Bruchteil, den das Plasma nach der Zeit t in dem Gemisch mit Kammerwasser ausmacht. D. h. $1/X$ ist die Plasmaverdünnung nach einer gewissen Zeit t .
- X_0 = der Bruchteil, den das Plasma anfänglich in dem Gemisch mit Kammerwasser ausmacht. In Tabelle Nr. 4 sind die Beispiele dargestellt für $X_0 = 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640$ und $1:1280$.
- t = die Zeit in Minuten, während welcher das Kammerwasser erneuert wurde. (Ordinaten der Tabelle Nr. 4).
- a = der Bruchteil, den das in der Minute neu zufließende Kammerwasser vom Gesamtvolumen ausmacht. Wenn als prozentuales Minutenvolumen der Kammerwassererneuerung nach *Goldman*⁹⁾ ungefähr 1 % angenommen wird, dann ist $a = 1:100$ zu setzen.
- e = Basis des natürlichen Logarithmus, d. h. eine Konstante von 2,718.

Schlussbetrachtung.

Unsere Versuche mit Ochsenkammerwasser haben keine Erklärung für die Nichtgerinnung von Kammerblutungen geben können. Dies kann daran liegen, dass das Schicksal einer Kammerblutung beim Ochsen ein anderes ist, als beim Menschen, d. h. dass beim Ochsen Gerinnung eintritt. Unsere Beobachtungen von Kammerblutungen an zwei enucleierten Ochsenaugen sprechen gegen diese Vermutung, während die Verhältnisse beim Kaninchen solche Unterschiede zwischen Mensch und Tier allgemein wahrscheinlich machen. Wenn aber die Verhältnisse beim Menschen und beim Ochsen die gleichen sind, dann bleiben trotz unserer Versuche noch verschiedene Möglichkeiten zur Erklärung der Nichtgerinnung offen.

Wenn es auch nicht angeht zu behaupten, eine Gerinnung in Räumen, die mit Endothel ausgekleidet sind, sei nicht möglich, so ist es trotzdem denkbar, dass die Wandbeschaffenheit der Vorderkammer für die Nichtgerinnung verantwortlich oder doch mitverantwortlich ist. Die Gerinnungsphysiologie kennt Gefäße, in welchen Blut dauernd flüssig bleibt, obwohl es seine Gerinnungsfähigkeit nicht verliert (Silikon). Es kann

also angenommen werden, dass die Wand der menschlichen Vorderkammer eine ähnliche Eigenschaft hat.

Ferner ist die Bedeutung von Heparin für die Nichtgerinnung von Kammerblutungen auch dann nicht ausgeschlossen, wenn es feststeht, dass normales Kammerwasser kein Heparin in nennenswerten Mengen enthält. Das Heparin könnte sehr wohl erst nach erfolgter Blutung reaktiv in die Kammer abgeschieden werden. Die Voraussetzung hierfür wären Speicher von Heparin in der Umgebung der Kammer. Und diese Speicher sind in der Tat in Form zahlreicher Mastzellen in der Iris und am limbus corneae vorhanden.

Schliesslich ist es auch nicht völlig ausgeschlossen, dass bei allen Kammerblutungen während einer gewissen Zeit Gerinnung besteht und dass bald darauf Defibrinierung oder Fibrinolyse das Blut wieder flüssig werden lässt. Wenn vorgefasste Meinung und anscheinend geringe praktische Bedeutung der Frage diesen Fehler der bisherigen Beobachtungen bedingt haben sollten, dann läge der Sinn unserer Arbeit nur darin, Unterlagen zur Revision einer praejudicierenden Auffassung geschaffen zu haben.

Wenn die Frage der Nichtgerinnung von Kammerblutungen weiter untersucht wird, dann sollten wohl in erster Linie die folgenden Punkte abgeklärt werden:

Erstens wären in kurzen Intervallen mit der Spaltlampe exakte klinische Beobachtungen möglichst frischer Vorderkammerblutungen vorzunehmen. Zweitens sollten Hyphaemata verschiedenen Alters punktiert und das Punktat darauf untersucht werden, ob es *in vitro* spontan, ob es bei Zusatz von Thrombin gerinnt, oder ob es überhaupt gerinnungsunfähig ist.

Wenn es möglich ist, menschliches Kammerwasser in einigermassen genügender Menge zu erhalten, dann wären ähnliche Versuche, wie sie in dieser Arbeit mit Ochsenkammerwasser durchgeführt wurden, von grossem Interesse.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) *Holmgren, H.*: Ergänzungsheft zum anatom. Anzeiger 85, 31, 1937.
- 2) *Henschen, Herzfeld und Klinger*: Bruns' Beitr. 104, 196, 1917.
- 3) *Halse*: Schw. med. Wochenschrift 17, 388, 1949.
- 4) *Zehnder, M.*: Helvetica chir. acta 14, 162, 1947.
- 5) *Hagedoorn*: Ophthalmologica 106, 99, 1943.
- 6) *Duke-Elder, W. St.*: Brit. Journal of Ophthalmology, Supplement-band III, 14, 1927.
- 7) *Quick, A.*: American Journal of Physiology 115, 317, 1936.
- 8) *Riehm, W.*: Bericht über die 49. Zusammenkunft der deutschen ophthalm. Ges., 188, 1932.
- 9) *Goldmann, H.*: Ophthalmologica 119, 65, 1950.

